乙酰辅酶A测定试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使用说明书

货号：JL-T1295　　**有 效 期：**6 个月

规格：48T(48S)/96T(96S)　　**保存温度：**2-8℃和-20℃

实验原理：

乙酰辅酶 A，是能源物质代谢的重要中间代谢产物，在体内能源物质代谢中是一个枢纽性的物质。糖、脂肪、蛋白质三大营养物质通过乙酰辅酶 A 汇聚成一条共同的代谢通路--三羧酸循环和氧化磷酸化，经过这条通路彻底氧化生成二氧化碳和水，释放能量用以 ATP 的合成。它也是合成脂肪酸、酮体、胆固醇及其衍生物等生理活性物质的前体物质。苹果酸脱氢酶可催化苹果酸和 NAD^+生成草酰乙酸和 NADH。柠檬酸合酶可催化乙酰辅酶 A 和草酰乙酸生成柠檬酸和辅酶 A。利用苹果酸脱氢酶和柠檬酸合酶的偶联反应，乙酰辅酶 A 含量和 NADH 的生成量成正比，340nm 下吸光值的上升量反应了乙酰辅酶 A 含量的高低。

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号和批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成：

试剂名称	规格（48T/48S）	规格（96T/96S）	保存条件
提取液	60mL×1 瓶	120mL×1 瓶	2-8℃
试剂一	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	2-8℃，避光
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃，避光
试剂三	50μL×1 瓶	50μL×2 瓶	-20℃，避光
试剂四	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃，避光

所需仪器耗材及试剂：

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、恒温箱、水浴锅。

样本处理及要求：

1. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为蒸馏水。

2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。

3. **组织样本**：按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液)冰浴匀浆，10000 g，4℃离心 10min，取上清待测。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. 试剂二：临用前取一瓶加入 5mL 试剂一溶解。
3. 试剂三：临用前取一瓶加入 5mL 试剂一溶解。
4. 试剂四：临用前取一瓶加入 1mL 试剂一溶解。

操作步骤：

1. **酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm。**
2. **样本测定（在 96 孔石英板中依次加入）：**

试剂名称(μL)	**测定孔**
样本	20
试剂二	85
试剂三	85
混匀，室温（25°C）下，5min 后于 340mm 处读取 A_1 值。	
试剂四	10
混匀，室温(25°C)下，反应 10min 后于 340nm 处读取吸光值 A_2，$\triangle A=A_2-A_1$。	

实验结果结算：

1. **按照样本质量计算：**

乙酰辅酶 A 含量(nmol/g 鲜重)=[△A÷ε÷d×V_2×10^9]÷(W×V_1÷V)=2575×△A÷W×N

注：

ε：NADH 摩尔消光系数，6220L/mol/cm

V_2：反应体系总体积，200μL=$2×10^{-4}$L

V：提取液体积，1mL

V_1：样本体积，20μL=0.02mL

d：96 孔板光径，0.625cm

W：样本质量，g

b：标曲的截距

N：样本稀释倍数

△A：△A=A_2-A_1

参考样本数据：

以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
大鼠肝脏（10%匀浆）	2 倍稀释	11569.739nmol/g
大鼠肾脏（10%匀浆）	2 倍稀释	10716.667nmol/g
大鼠脑（10%匀浆）	2 倍稀释	10869.594nmol/g
菠菜（10%匀浆）	2 倍稀释	13139.565nmol/g

咨询电话：400-0066-400

传　　真：021-55660885

电子邮箱：shjlsw@163.com

网　　址：www.jonln.com